

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 579.25  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-2-135-145>

Поступила в редакцию 26.11.2024  
Received 26.11.2024

**А. А. Муратова, А. Э. Охремчук, Л. Н. Валентович**

*Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS AMYGDALI* PV. *LACHRYMANS* 8 – ВОЗБУДИТЕЛЯ УГЛОВАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ ЛИСТЬЕВ ОГУРЦА**

**Аннотация.** В статье отражены результаты секвенирования, молекулярно-генетического и сравнительного анализа генома фитопатогенной бактерии *Pseudomonas amygdali* pv. *lachrymans* 8. Собранный геномная последовательность депонирована в базу данных GenBank Национального центра биотехнологической информации (НЦБИ) США (номера для доступа: CP075686–CP075690). В результате расчета средней нуклеотидной идентичности определено, что последовательность генома штамма 8 имеет сходство 99,87 % и 99,79 % с последовательностями геномов бактерий *P. amygdali* pv. *lachrymans* 814/98 и *P. amygdali* pv. *lachrymans* M301315 соответственно. Установлено, что геном штамма 8 представлен кольцевой хромосомой размером 6 054 652 п. н. с содержанием ГЦ-пар 58,11 % и четырьмя кольцевыми плазмидами: pPAL8-01 (77 748 п. н., содержание ГЦ-пар 56 %), pPAL8-02 (72 398 п. н., содержание ГЦ-пар 55 %), pPAL8-03 (49 000 п. н., содержание ГЦ-пар 54 %) и pPAL8-04 (9600 п. н., содержание ГЦ-пар 55 %). Высказано предположение, что путь распространения изучаемого фитопатогена осуществлялся либо параллельно из Нидерландов в США и Беларусь, либо сначала из Нидерландов на территорию США, а затем в Беларусь. Осуществлено сравнение нуклеотидной последовательности штамма 8 с нуклеотидными последовательностями бактерий *P. amygdali* pv. *lachrymans* M301315, NM002 и YM7902, в результате чего выявлены значительные генетические перестройки и определена локализация уникальной области размером 19 773 п. н.

**Ключевые слова:** псевдомонады, фитопатоген, полногеномное секвенирование, анализ генома, генетические перестройки

**Для цитирования:** Муратова, А. А. Особенности структурно-функциональной организации генома бактерии *Pseudomonas amygdali* pv. *lachrymans* 8 – возбудителя угловатой пятнистости листьев огурца / А. А. Муратова, А. Э. Охремчук, Л. Н. Валентович // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2025. – Т. 70, № 2. – С. 135–145. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-2-135-145>

**Anna A. Muratova, Artur E. Akhremchuk, Leonid N. Valentovich**

*Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

## **SPECIAL ASPECTS OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ORGANIZATION OF THE GENOME OF *PSEUDOMONAS AMYGDALI* PV. *LACHRYMANS* 8: A CAUSATIVE AGENT OF ANGULAR LEAF SPOT OF CUCUMBER**

**Abstract.** This article presents the results of the sequencing, molecular genetic and comparative analysis of the genome of the phytopathogenic bacterium *Pseudomonas amygdali* pv. *lachrymans* 8. The assembled genome sequence has been deposited in the GenBank database of the US National Center for Biotechnology Information (accession numbers: CP075686–CP075690). The calculation of the average nucleotide identity revealed that the genome sequence of strain 8 exhibits 99.87 and 99.79 % similarity with the genome sequences of bacteria *P. amygdali* pv. *lachrymans* 814/98 and *P. amygdali* pv. *lachrymans* M301315, respectively. The genome of strain 8 was found to be represented by a circular chromosome of 6,054,652 bp with a GC-pair content of 58.11 % and four circular plasmids: pPAL8-01 (77,748 bp, GC-pair content of 56 %), pPAL8-02 (72,398 bp, GC-pair content of 55 %), pPAL8-03 (49,000 bp, GC-pair content of 54 %) and pPAL8-04 (9,600 bp, GC-pair content of 55 %). It is suggested that the route of dissemination of the studied phytopathogen was either parallel from the Netherlands to the USA and Belarus, or first from the Netherlands to the USA and then to Belarus. A comparison of the nucleotide sequence of the strain 8 with the nucleotide sequences of the bacteria *P. amygdali* pv. *lachrymans* M301315, NM002 and YM7902 revealed significant genetic rearrangements and determined the localization of a unique region of 19,773 bp.

**Keywords:** pseudomonads, phytopathogen, whole genome sequencing, genome analysis, genetic rearrangements

**For citation:** Muratova A. A., Akhremchuk A. E., Valentovich L. N. Special aspects of structural and functional organization of the genome of *Pseudomonas amygdali* pv. *lachrymans* 8: a causative agent of angular leaf spot of cucumber. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2025, vol. 70, no. 2, pp. 135–145 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-2-135-145>

**Введение.** На данный момент в полифилетический род *Pseudomonas* [1] объединено большое количество видов (~340 согласно списку названий прокариот с указанием места в номенклатуре (<https://lpsn.dsmz.de/genus/pseudomonas>)), представители которых обладают разнообразным метаболическим потенциалом, что позволяет им осваивать практически все известные экологические ниши [2]. Например, среди представителей данного рода есть как патогены животных, растений и грибов, так и штаммы, стимулирующие рост и развитие сельскохозяйственных растений [3–6].

Фитопатогенные псевдомонады поражают травянистые и древесные виды растений и наносят значительный ущерб сельскому хозяйству по всему миру [7]. В настоящее время фитопатогенные штаммы обнаружены среди представителей 25 видов рода *Pseudomonas*, большинство из которых относится к *P. syringae* [8]. Представители данного вида распространены по всему миру и сгруппированы в более чем 50 патоваров в зависимости от способности поражать определенные группы высших растений. Вспышки заболеваний, вызванные бактериями *P. syringae*, периодически угрожают мировому производству сельскохозяйственной продукции [9]. В 2020 г. группа исследователей провела филогеномный анализ 494 полных геномов бактерий рода *Pseudomonas*, в результате чего было показано, что бактерии *P. syringae* не образуют монофилетический вид в строгом смысле слова, а представляют собой более широкую эволюционную группу (*sensu lato*), в которую на данный момент входят и другие виды, такие как *P. avellanae*, *P. savastanoi*, *P. cerasi* и *P. amygdali* [10].

Бактерии вида *P. amygdali* – гемибиотрофные фитопатогены, которые, как было указано выше, входят в комплекс видов *P. syringae*. Вид *P. amygdali* описан в 1975 г. и назван в связи со способностью данных бактерий вызывать болезни миндальных деревьев (*Prunus amygdalus*) [11]. В 1999 г. Л. Гардан с коллегами на основании методов ДНК-ДНК-гибридизации и риботипирования причислили патовары *lachrymans*, *tabaci*, *mori* и *sesami*, первоначально отнесенные к *P. syringae*, к виду *P. amygdali* [12]. Патовары *tabaci*, *mori* и *sesami* вызывают заболевания табака, шелковицы и кунжута соответственно [13–15]. Бактерии патовара *P. amygdali* pv. *lachrymans* (*Pal*) вызывают угловатую пятнистость листьев огурца. Данное заболевание распространено почти во всех регионах мира и вызывает серьезные потери урожая не только огурцов (*Cucumis sativus*), но и других тыквенных культур, включая арбуз (*Citrullus lanatus*), дыню (*C. melo*) и тыкву (*Cucurbita maxima*) [16]. Симптомы поражения проявляются в виде мокнущих пятен неправильной угловатой формы на листьях растений и мелких, деформированных плодов [17]. В период с 2014 по 2016 г. вспышки угловатой пятнистости листьев огурца во многих провинциях Китая привели к потере от 30 до 50 % урожая [18]. Однако, учитывая экономический ущерб, который может быть нанесен данными бактериями, работ с описанием генетической организации, механизмов патогенеза и взаимодействия *Pal* с растениями на настоящий момент представлено несоизмеримо мало и только для двух штаммов [19, 20].

Таким образом, целью настоящего исследования стало изучение особенностей структурно-функциональной организации генома фитопатогенного штамма *P. amygdali* pv. *lachrymans* 8 (*Pal* 8), выделенного на территории Республики Беларусь.

**Объекты и методы исследования.** Объектом исследования являлись бактерии *Pal* 8 (номер в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов – БИМ В-695), также использовались бактерии *P. fluorescens* БИМ В-167.

Исследование фитопатогенных свойств проводили на растениях огурца сорта Малышок. Бактерии выращивали в течение 16 ч на скошенной агаризованной LB-среде (Conda, 1083), затем клетки ресуспендировали в физиологическом растворе и доводили до значений ОП<sub>600</sub>, равных 0,1 и 0,3, после чего 10 мкл суспензии клеток вводили путем инъекции в паренхиму листа при помощи шприца Гамильтона. Проявление признаков заражения оценивали через 10–15 сут после инокуляции.

Исследуемые бактерии выращивали на агаризованной LB-среде с содержанием агар-агара 2 %. Нуклеиновые кислоты выделяли с использованием набора Bacteria DNA Preparation Kit (Jena Bioscience, PP-206).

Добавление адаптеров и подготовку библиотек ДНК к секвенированию проводили с использованием коммерческих наборов реактивов: Nextera XT DNA Library Prep Kit (FC-131-1024,

Illumina) – для последующего секвенирования по методу Illumina; Ligation Sequencing Kit (SOLSK109, Oxford Nanopore Technologies) – для последующего секвенирования с помощью нанопор.

Высокопроизводительное секвенирование выполняли на системе MiSeq (Illumina) с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit v3, позволяющих получать прочтения длиной  $2 \times 301$  нуклеотид. Нанопоровое секвенирование проводили с помощью прибора MinION (MinION MK 1B, Oxford Nanopore Technologies) и проточной ячейки R9.4.1.

Для удаления адаптеров и низкокачественных последовательностей ( $Q < 18$ ) в данных, полученных на секвенаторе MiSeq, была использована программа Trimmomatic v.0.39 [21]; для сортировки и фильтрации fastq-файлов, полученных на секвенаторе MinION, – программа Barapost [22]. Для парного выравнивания последовательностей с целью их сравнения применяли пакет программ BLAST [23] и базы данных GenBank Национального центра биотехнологической информации (НЦБИ) США [24]. Прочтения, полученные на приборе MiSeq, собирали до контигов с помощью программы SPAdes v.3.15.2 [25]. Для анализа частоты встречаемости контигов и поиска совпадающих концов использовали сценарий combinator-FQ.py из пакета программ ЦАГИИ-Разное (CAGER-misc) [26]. Прочтения, полученные на приборе MinION, собирали до черновика генома с помощью программы Flye v.2.8.3-b1695 [27]. Для исправления ошибок в черновой последовательности генома с помощью высококачественных прочтений MiSeq, была использована программа Pilon v.1.24 [28]. Для выравнивания прочтений относительно референсной последовательности использовали программу Bowtie 2 v.2.4.2 [29]. Для визуализации выровненных прочтений относительно референсной последовательности использовали программу Tablet v.1.21.02.08 [30].

Аннотация геномной последовательности проводилась на сервере НЦБИ США с помощью программы PGAP v.5.2 [31]. Визуализацию генетических карт осуществляли с помощью сервера Proksee [32] или программы SnapGene Viewer 5.2.

Расчет средней нуклеотидной идентичности (СНИ) проводили с использованием онлайн-сервиса JSpeciesWS [33] и программы OAT 0.93.1 [34]. Выравнивание полногеномных последовательностей выполняли в программе Mauve 20150226 [35]. Для поиска в пределах полногеномных последовательностей уникальных и общих ортологичных генов использовали веб-сервер OrthoVenn3 [36]. Информацию о генах, ответственных за синтез систем рестрикции-модификации (Р-М), брали из веб-ресурса REBASE [37]. Поиск и анализ генетических локусов, относящихся к системе CRISPR/Cas, выполняли с помощью ресурса CRISPRCasFinder [38]. Поиск генетических детерминант, ответственных за устойчивость к антибактериальным лекарственным средствам, проводили с помощью ресурсов ResFinderFG-2.0 [39] и AMRFinderPlus [40].

**Результаты и их обсуждение.** В 2006 г. в Беларуси канд. биол. наук, доцент кафедры микробиологии биологического факультета Белорусского государственного университета В. Е. Мямин выделил из пораженных листьев огурца сорта Кураж F1 изолят, обозначенный как 8. По результатам биохимических тестов и секвенирования фрагмента гена 16S рРНК была установлена принадлежность выделенного штамма к *Pal*. Для подтверждения фитопатогенных свойств изучаемого штамма был проведен эксперимент по заражению растений огурца штаммом 8. В качестве отрицательных контролей использовали физиологический раствор и суспензии клеток непатогенного штамма *P. fluorescens* БИМ В-167. Показано, что после инокуляции растений огурца клеточной суспензией *Pal* 8 в количестве  $\approx 5,5 \times 10^7$  КОЕ/мл наблюдалось появление некротических пятен на листьях, а при заражении клеточной суспензией  $\approx 1,7 \times 10^8$  КОЕ/мл отмечалось образование больших маслянистых пятен и дальнейшего увядания листьев огурца (рис. 1).

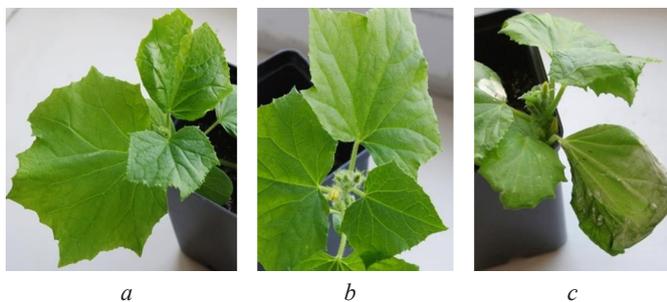


Рис. 1. Фотографии растений огурца через 10–15 сут после искусственного заражения: а – физиологический раствор; б – *P. fluorescens* БИМ В-167; с – *Pal* 8

Fig. 1. Photographs of cucumber plants 10–15 days after artificial infection: a – saline solution; b – *P. fluorescens* BIM B-167; c – *Pal* 8

Таблица 1. Сравнение генома штамма *Pal 8* с геномами близкородственных бактерийTable 1. The comparison of the genome of the strain *Pal 8* with the genomes of closely related bacteria

| Штамм  | Общий размер генома, п. н. | ГЦ, % | СНИ* (выровнено), % |
|--|----------------------------|-------|---------------------|
| <i>Pal 814/98</i>                                    | 6 579 377                  | 57,2  | 99,87 (92,39)       |
| <i>Pal M301315</i>                                   | 6 009 235                  | 57,5  | 99,79 (85,72)       |
| <i>Pal 98A-744</i>                                   | 6 276 659                  | 58,0  | 99,72 (92,62)       |
| <i>Pal NM002</i>                                     | 6 009 235                  | 58,1  | 99,85 (95,97)       |
| <i>Pal YM7902</i>                                    | 6 759 782                  | 57,7  | 99,65 (89,06)       |
| <i>Pal ICMP 1448</i>                                 | 5 799 366                  | 58,2  | 99,65 (95,99)       |
| <i>P. amygdali</i> pv. <i>tabaci</i> ATCC 11528      | 6 201 720                  | 58,0  | 98,07 (86,76)       |
| <i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> ICMP 4352 | 6 023 336                  | 58,0  | 97,10 (82,32)       |
| <i>P. syringae</i> Susan2139                         | 5 868 373                  | 59,0  | 88,49 (84,46)       |

Примечание. \* – СНИ между штаммом *Pal 8* и указанными в таблице штаммами.

содержание ГЦ-пар – 56 %), pPAL8-02 (72 398 п. н., содержание ГЦ-пар – 55 %), pPAL8-03 (49 000 п. н., содержание ГЦ-пар – 54 %) и pPAL8-04 (9600 п. н., содержание ГЦ-пар – 55 %).

Установлено сходство изучаемых бактерий с известными представителями бактерий рода *Pseudomonas* путем расчета СНИ. Определено, что ближайшие родственные штаммы бактерий *Pal 8* среди депонированных в базе данных GenBank – это штаммы *Pal 814/98* и *Pal M301315*, СНИ с которыми составила соответственно 99,87 и 99,79 % (табл. 1).

С целью выявления вероятных путей распространения фитопатогена *Pal 8* на территорию Республики Беларусь проводили сравнительный анализ показателей СНИ ортологических генов (ортоСНИ) близкородственных представителей (рис. 2).

Как видно на рис. 1, штамм *Pal 8* способен вызывать образование некротических пятен на листьях растений огурца, что подтверждает наличие у этого штамма фитопатогенных свойств.

Для поиска генов, которые могут быть задействованы в патогенезе, штамм *Pal 8* был подвергнут дальнейшему молекулярно-генетическому анализу.

Последовательность генома была секвенирована, собрана и депонирована в общедоступную базу данных GenBank (номера для доступа: CP075686–CP075690). Установлено, что геном *Pal 8* представлен кольцевой хромосомой размером 6 054 652 п. н. с содержанием ГЦ-пар 58,11 % и четырьмя кольцевыми плазмидами: pPAL8-01 (77 748 п. н.,

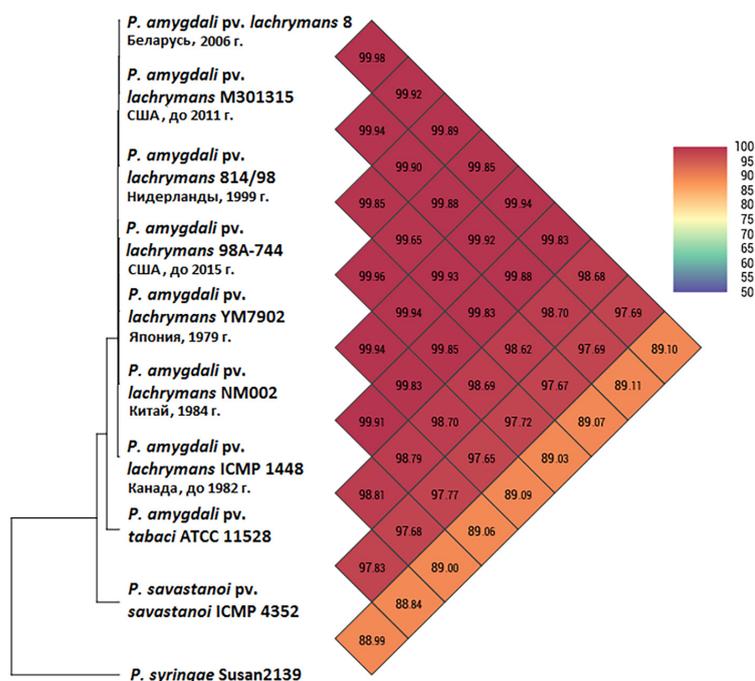


Рис. 2. Тепловая карта, показывающая значения ортоСНИ штамма 8 и близкородственных видов с обозначением страны и года выделения штаммов

Fig. 2. Heat map showing the orthoANI values of strain 8 and closely related species with the country and year of isolation of the strains indicated

Как видно из данных, представленных на рис. 2, штаммы 8, M301315, 814/98, 98A-744, YM7902, NM002 и ISMP 1448 образуют ветвь со схожими показателями ортоСНИ. Наибольшие значения ортоСНИ в сравнении со штаммом 8 продемонстрировали штаммы M301315 (99,98 %) и 814/98 (99,92 %), которые были выделены на территории США и Нидерландов соответственно. Учитывая проведенный сравнительный анализ, можно высказать предположение, что путь распространения фитопатогена *Pal* осуществлялся либо параллельно из Нидерландов в США и Беларусь, либо сначала из Нидерландов на территорию США, а затем в Беларусь.

Несмотря на негативную реакцию научных кругов, антибиотики (такие как стрептомицин, окситетрациклин или касугамицин) по-прежнему используются во многих странах для борьбы с основными бактериальными заболеваниями растений. Следовательно, анализ геномной последовательности на наличие генов устойчивости к антибиотическим веществам является важным этапом характеристики фитопатогенного штамма. Анализ не выявил генетических детерминант антибиотикорезистентности у бактерий *Pal* 8, согласно курируемым базам данных эталонных генов антибиотикорезистентности с помощью сервиса AMRFinderPlus (база данных от 22.07.2024) и базе данных генов антибиотикорезистентности, выявленных методом функциональной метагеномики, ресурса ResFinderFG-2.0 (версия от 30.06.2022). Поиск системы CRISPR/Cas (коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами) выявил в хромосоме бактерий штамма 8 наличие повторяющихся последовательностей, однако генов системы CRISPR/Cas не было идентифицировано. В нуклеотидной последовательности штамма *Pal* 8 найдены компоненты системы Р-М типа II, которые имеют как хромосомную (номера локусов C4C37\_00035, C4C37\_00645, C4C37\_03980 (неполная последовательность), C4C37\_04275, C4C37\_04280, C4C37\_09560, C4C37\_09565, C4C37\_10430, C4C37\_13215, C4C37\_18430), так и плазмидную (номера локусов C4C37\_28745, C4C37\_28750) локализацию.

На следующем этапе работы с целью проведения анализа и выявления уникальных генетических особенностей генома бактерий *Pal* 8 сравнивали нуклеотидную последовательность исследуемого штамма с полногеномными последовательностями бактерий изучаемого патовара. На момент проведения сравнения (сентябрь 2024 г.) в базе данных GenBank, помимо штамма 8, были депонированы всего три полностью собранные геномные последовательности бактерий патовара *lachrymans* штаммов M301315, NM002 и YM7902. Характеристика и особенности геномных последовательностей данных бактерий представлены в табл. 2.

Далее для определения геномных перестроек и выявления уникальных областей был выполнен сравнительный анализ нуклеотидной последовательности штамма *Pal* 8 с последовательностями штаммов *Pal* M301315, *Pal* NM002 и *Pal* YM7902 (рис. 3).

Таблица 2. Характеристика и геномные особенности *Pal* 8 и других представителей изучаемого патовара  
Table 2. Characteristics and genomic features of *Pal* 8 and other representatives of the studied pathovar

| Характеристики                           | <i>Pal</i> 8   | <i>Pal</i> NM002                                  | <i>Pal</i> M301315  | <i>Pal</i> YM7902  |
|--|--|---|---|--|
| Место/источник выделения                 | Беларусь/растение огурца   | Китай/растение огурца                             | США/–   | Япония/растение огурца   |
| Дата депонирования в базу данных GenBank | 31.05.2021   | 22.03.2017  | 31.07.2018  | 12.06.2023   |
| Размер хромосомы, п. н.                  | 6 054 652  | 6 009 235   | 6 075 120   | 6 122 931  |
| ГЦ-состав, %                             | 58,11  | 58,10   | 57,42   | 57,67  |
| Репликоны                                | Одна хромосома (CP075686.1); четыре плазмиды (CP075687.1–CP075690.1) | Одна хромосома (CP020351.1); плазмиды отсутствуют | Одна хромосома (CP031225.1); три плазмиды (CP031226.1–CP031228.1) | Одна хромосома (CP127045.1); шесть плазмид (CP127046.1–CP127051.1) |
| Всего генов                              | 5757   | 5706  | 7132  | 6333   |
| Гены, кодирующие белки                   | 5487   | 5375  | 6606  | 6100   |
| Гены РНК кластеров                       | 85   | 85  | 140   | 86   |
| Гены рРНК (5S, 16S, 23S)                 | 6, 5, 5  | 6, 5, 5   | 6, 5, 5   | 6, 5, 5  |
| Гены тРНК                                | 65   | 65  | 119   | 66   |
| Другие гены РНК                          | 4  | 4   | 5   | 4  |
| Псевдогены                               | 185  | 246   | 386   | 147  |

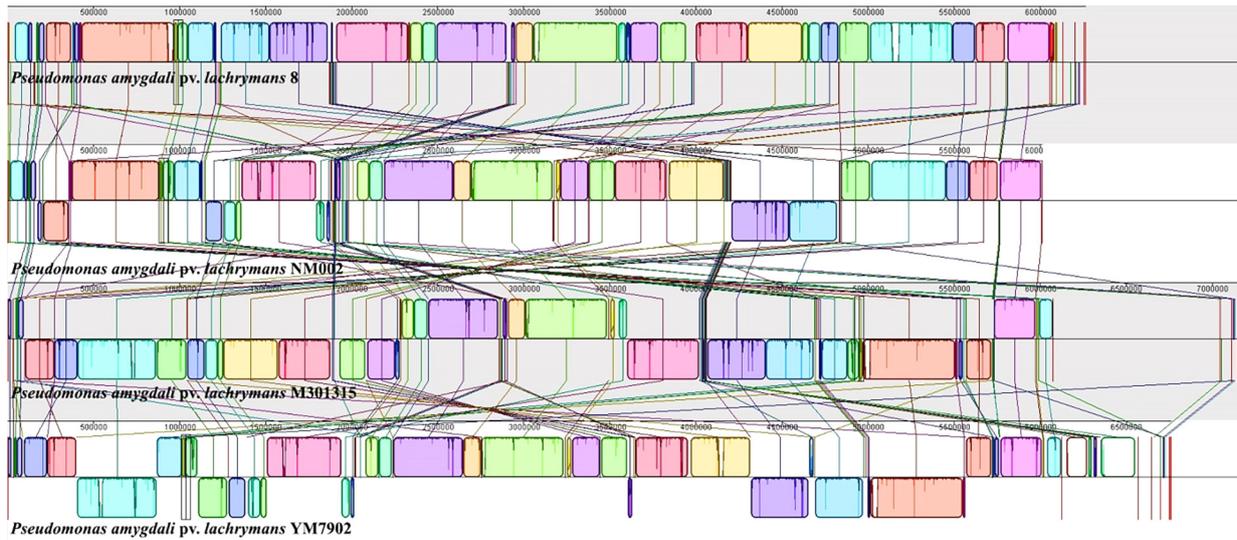


Рис. 3. Графический результат выравнивания геномов штаммов *Pal* 8, *Pal* M301315, *Pal* NM002 и *Pal* YM7902 (идентичные области обозначены одинаковым цветом)

Fig. 3. A graphical result of genome alignment of strains *Pal* 8, *Pal* M301315, *Pal* NM002 and *Pal* YM7902 (identical regions are filled with the same color)

Как показано на рис. 3, в пределах генома штамма *Pal* 8 имеется ряд генетических перестроек в сравнении с близкородственными представителями *Pal* M301315, *Pal* NM002 и *Pal* YM7902. Наиболее схожее расположение генов в сравнении со штаммом 8 имеет геном штамма NM002. Выявлена уникальная область в пределах хромосомы штамма *Pal* 8 размером 19 773 п. н. (координаты на хромосоме: 5 154 790–5 174 562 п. н.), которая содержит 17 открытых рамок считывания (ОРС). Генетическая карта и характеристика ОРС данной области приведены на рис. 4 и в табл. 3.

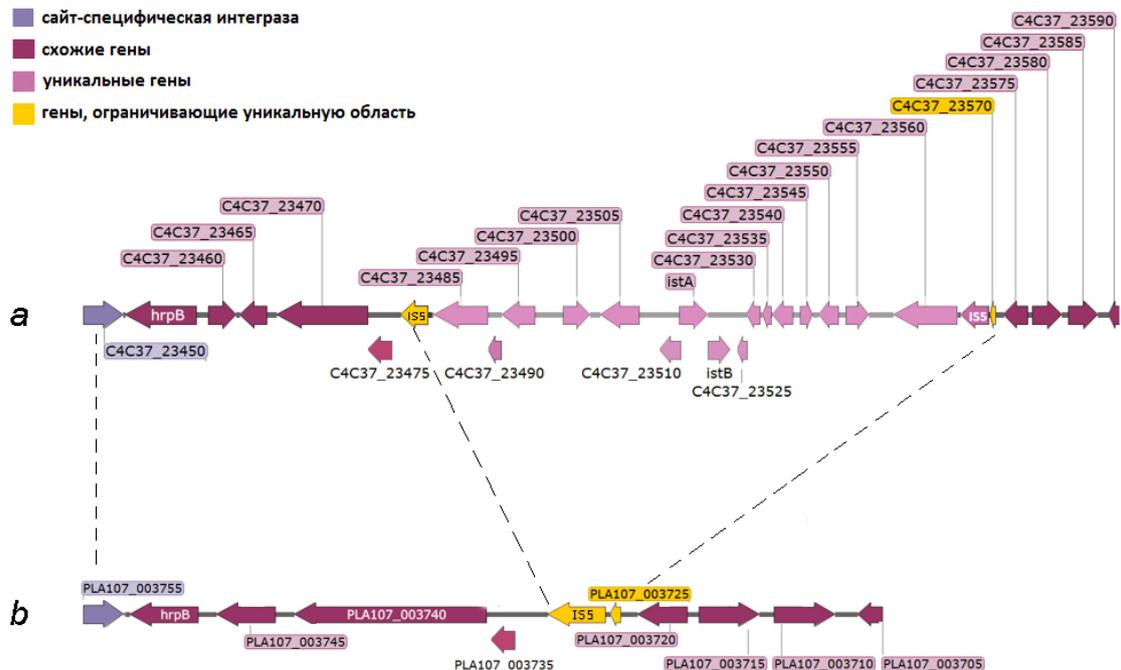


Рис. 4. Графический результат сравнения генетических локусов штаммов *Pal* 8 и *Pal* M301315: *a* – область в геноме штамма *Pal* 8; *b* – аналогичный регион в геноме штамма *Pal* M301315

Fig. 4. A graphical result of comparison of genetic loci of strains *Pal* 8 and *Pal* M301315: *a* – region in the genome of strain *Pal* 8; *b* – the same region in the genome of strain *Pal* M301315

Т а б л и ц а 3. Унікальныя ОРС, складаючыя кластер у геноме бактэрыі штамма *Pal 8*

Table 3. Unique ORFs constituting a cluster in the genome of strain *Pal 8*

| Номер локуса (ген)          | Размер, п. н. | Функция белка или продукт                          |
|-----------------------------|---------------|--|
| C4C37_23485                 | 1941          | ABC-транспортер                                    |
| C4C37_23490                 | 486           | Белок с неизвестной функцией                       |
| C4C37_23495                 | 1212          | Белок с неизвестной функцией                       |
| C4C37_23500                 | 981           | Транспозаза семейства IS5                          |
| <b>C4C37_23505</b>          | <b>1407</b>   | <b>Белок с неизвестной функцией</b>                |
| C4C37_23510                 | 762           | Гидролаза семейства NAD                            |
| C4C37_23515 ( <i>istA</i> ) | 1023          | IS21-подобный элемент транспозазы семейства ISPsy4 |
| C4C37_23520 ( <i>istB</i> ) | 810           | IS21-подобный элемент транспозазы семейства ISPsy4 |
| C4C37_23525                 | 357           | Белок с неизвестной функцией                       |
| C4C37_23530                 | 498           | Белок с неизвестной функцией                       |
| C4C37_23535                 | 309           | Белок с неизвестной функцией                       |
| C4C37_23540                 | 750           | Белок семейства металлофосфотераз                  |
| C4C37_23545                 | 441           | Белок, содержащий домен спираль-поворот-спираль    |
| <b>C4C37_23550</b>          | <b>708</b>    | <b>Белок с неизвестной функцией</b>                |
| <b>C4C37_23555</b>          | <b>810</b>    | <b>Нуклеаза семейства GIY-YIG</b>                  |
| C4C37_23560                 | 2268          | АТФаза семейства AAA                               |
| C4C37_23565                 | 978           | Транспозаза семейства IS5                          |

Примечание. Полужирным шрифтом выделены гены, не встречающиеся в геномах бактерий, представленных в базе данных nr/nt GenBank.

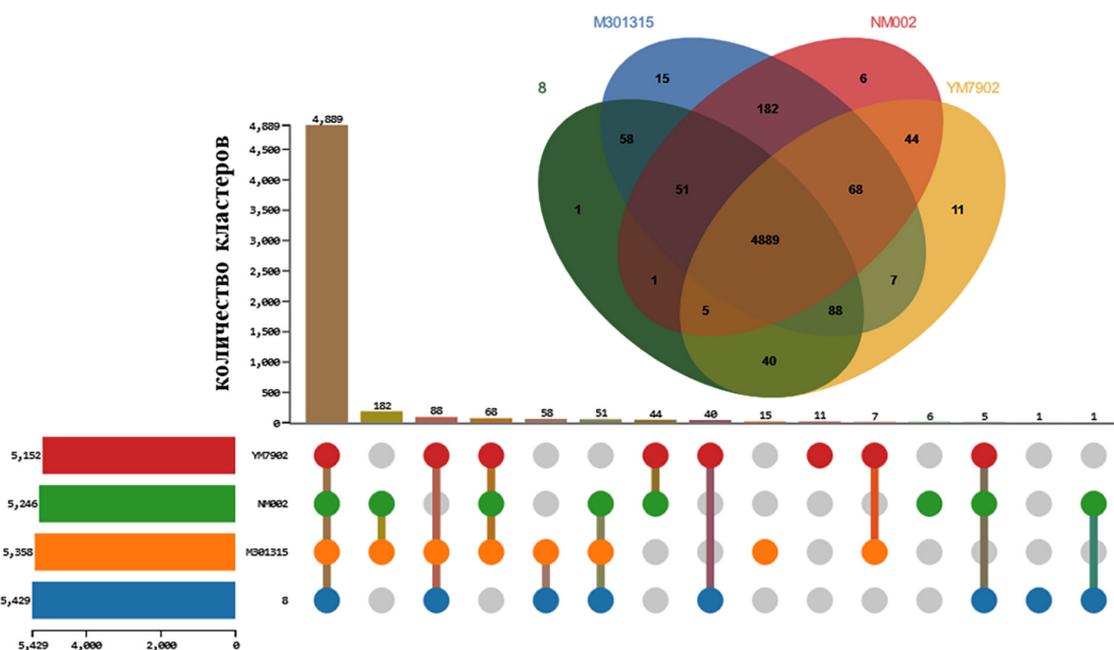


Рис. 5. Графический результат сравнения нуклеотидных последовательностей штаммов *Pal 8*, *Pal M301315*, *Pal NM002*, *Pal YM7902*. Диаграмма отображает общие и уникальные ортологичные кластеры сравниваемых штаммов. Горизонтальная столбчатая диаграмма слева показывает количество ортологичных кластеров на штамм. Правая вертикальная столбчатая диаграмма – количество ортологичных кластеров, общих для штаммов. Линии представляют пересекающиеся группы

Fig. 5. A graphical result of comparison of nucleotide sequences of strains *Pal 8*, *Pal M301315*, *Pal NM002*, *Pal YM7902*. The diagram shows common and unique orthologous clusters of the compared strains. The horizontal bar chart on the left shows the number of orthologous clusters per strain. The vertical bar chart on the right shows the number of orthologous clusters shared by the strains. The lines represent intersecting sets

ОРС под номерами локусов C4C37\_23485, C4C37\_23490, C4C37\_23495 образуют единый кластер, который имеет высокий процент идентичности (92,30 %) с нуклеотидной последовательностью бактерий штамма *P. cannabina* pv. *alisalensis* MAFF 301419. Данный штамм также является фитопатогеном и вызывает бактериальный ожог листьев и бактериальную пятнистость крестоцветных.

ОРС с номерами локусов C4C37\_23505, C4C37\_23550, C4C37\_23555 не встречается в геномах бактерий, представленных в базе данных nr/nt GenBank (по состоянию на сентябрь 2024 г.). Остальные генетические детерминанты, представленные в табл. 3, отсутствуют в пределах геномов штаммов M301315, NM002, YM7902, однако имеются у других представителей бактерий рода *Pseudomonas*.

На следующем этапе геномного анализа определяли количество уникальных и общих ортологичных генов штаммов *Pal 8*, *Pal* M301315, *Pal* NM002 и *Pal* YM7902. Результаты данного анализа представлены на рис. 5.

В результате проведенного анализа определено, что 4889 ортологичных генов являются общими для всех исследованных штаммов. В свою очередь, в пределах хромосомной последовательности штамма *Pal 8* локализованы уникальные ортологичные гены со следующими номерами локусов: C4C37\_14075, C4C37\_14130, C4C37\_14175 и C4C37\_14220. Данные ОРС кодируют практически идентичные белки с неизвестной функцией, размером 146 аминокислотных остатков.

В настоящее время анализ нуклеотидных последовательностей геномов бактерий с использованием современных средств аннотации позволяет предсказать наличие генов, связанных с фитопатогенными или же фитостимулирующими свойствами штамма. Данному анализу будет посвящена отдельная статья.

**Закключение.** В работе приведены данные, которые подтверждают, что бактерии *Pal 8 in planta* проявляют фитопатогенную активность в отношении растений огурца. Проведено полногеномное секвенирование изучаемых бактерий с последующим депонированием собранной последовательности нуклеотидов в общедоступную базу данных GenBank (номера для доступа: CP075686–CP075690). Определены вероятные пути распространения фитопатогенного штамма *Pal 8* на территорию Беларуси. Осуществлено сравнение нуклеотидной последовательности штамма *Pal 8* с наиболее схожими нуклеотидными последовательностями бактерий патовара *Pal* (штаммы M301315, NM002 и YM7902), в результате чего выявлены значительные генетические перестройки и определена локализация уникальной области размером 19 773 п. н. (координаты на хромосоме штамма 8: 5 154 790–5 174 562 п. н.). Установлено, что в пределах хромосомной последовательности штамма 8 локализовано 4889 ортологичных генов, общих для штаммов *Pal 8*, *Pal* M301315, *Pal* NM002 и *Pal* YM7902, и 4 уникальных ортологичных гена с номерами локусов C4C37\_14075, C4C37\_14130, C4C37\_14175 и C4C37\_14220.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности.** Исследования выполнены при финансовой поддержке государственной программы научных исследований «Биотехнологии» (задание 3.03) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № B23M-076).

**Acknowledgements.** The research was carried out with the financial support of the State Program of Scientific Research “Biotechnologies” (task 3.03) and the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (contract No. B23M-076).

### Список использованных источников

1. Past, present and future of the boundaries of the *Pseudomonas* genus: Proposal of *Stutzerimonas* gen. Nov / J. Lalucat, M. Gomila, M. Mulet [et al.] // Systematic and Applied Microbiology. – 2022. – Vol. 45, N 1. – Art. 126289. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2021.126289>
2. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable / M. W. Silby, C. Winstanley, S. A. C. Godfrey [et al.] // FEMS Microbiology Reviews. – 2011. – Vol. 35, N 4. – P. 652–680. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00269.x>
3. Multifaceted Impacts of Plant-Beneficial *Pseudomonas* spp. in Managing Various Plant Diseases and Crop Yield Improvement / N. Mehmood, M. Saeed, S. Zafarullah [et al.] // ACS Omega. – 2023. – Vol. 8, N 25. – P. 22296–22315. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00870>
4. Höfte, M. Plant pathogenic *Pseudomonas* species / M. Höfte, P. De Vos // Plant-Associated Bacteria / ed. S. S. Gnanamanickam. – Dordrecht, 2006. – P. 507–533. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7_14)
5. Diggle, S. P. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat / S. P. Diggle, M. Whiteley // Microbiology (Reading). – 2020. – Vol. 166, N 1. – P. 30–33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>
6. *Pseudomonas fluorescens* Showing Antifungal Activity against *Macrophomina phaseolina*, a Severe Pathogenic Fungus of Soybean, Produces Phenazine as the Main Active Metabolite / S. Castaldi, M. Masi, F. Sautua [et al.] // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11, N 11. – Art. 1728. <https://doi.org/10.3390/biom11111728>

7. Phytopathogenic *Pseudomonas syringae* as a Threat to Agriculture: Perspectives of a Promising Biological Control Using Bacteriophages and Microorganisms / P. Córdova, J. P. Rivera-González, V. Rojas-Martínez [et al.] // *Horticulturae*. – 2023. – Vol. 9, N 6. – Art. 712. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9060712>
- 8 Schroth, M. N. Phytopathogenic Pseudomonads and Related Plant-Associated Pseudomonads / M. N. Schroth, D. C. Hildebrand, N. Panopoulos // *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria* / eds.: M. Dworkin [et al.]. – 3<sup>rd</sup> ed. – New York, 2006. – Vol. 6: Proteobacteria: Gamma Subclass. – P. 714–740. [https://doi.org/10.1007/0-387-30746-x\\_23](https://doi.org/10.1007/0-387-30746-x_23)
9. *Pseudomonas syringae* (bacterial blast) // PlantwisePlus Knowledge Bank. – 2022. – Vol. Species Pages – Art. 45010. <https://doi.org/10.1079/pwkb.species.45010>
10. Comparative Analysis of the Core Proteomes among the *Pseudomonas* Major Evolutionary Groups Reveals Species-Specific Adaptations for *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas chlororaphis* / M. Nikolaidis, D. Mossialos, S. G. Oliver, G. D. Amoutzias // *Diversity*. – 2020. – Vol. 12, N 8. – P. 289. <https://doi.org/10.3390/d12080289>
11. Psallidas, P. G. A new bacteriosis of almond caused by *Pseudomonas amygdali* sp. nov. / P. G. Psallidas, C. G. Panagopoulos // *Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki*. – 1975. – Vol. 11, N 2. – P. 94–108.
12. DNA relatedness among the pathovars of *Pseudomonas syringae* and description of *Pseudomonas tremae* sp. nov. and *Pseudomonas cannabina* sp. nov. (ex Sutic and Dowson 1959) / L. Gardan, H. Shafik, S. Belouin [et al.] // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 1999. – Vol. 49, N 2 – P. 469–478. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-469>
13. Suppression of plant defense responses by extracellular metabolites from *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* in *Nicotiana benthamiana* / S. Lee, D. S. Yang, S. R. Uppalapati [et al.] // *BMC Plant Biology*. – 2013. – Vol. 13, N 1. – Art. 65. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-65>
14. CABI. *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (bacterial: mulberry blight) / CABI // *CABI Compendium*. – 2019. – Art. 44977. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.44977>
15. Pathogenesis of *Pseudomonas syringae* pv. *sesami* associated with sesame (*Sesamum indicum* L.) bacterial leaf spot / S. S. Firdous, R. Asghar, M. Irfan-ul-Haque [et al.] // *Pakistan Journal of Botany*. – 2009. – Vol. 41, N 2. – P. 927–934.
16. Olczak-Woltman, H. Genetic background of host-pathogen interaction between *Cucumis sativus* L. and *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* / H. Olczak-Woltman, M. Schollenberger, K. Niemirowicz-Szczytt // *Journal of Applied Genetics*. – 2009. – Vol. 50, N 1. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1007/bf03195645>
17. Inheritance of resistance to angular leaf spot (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) in cucumber and identification of molecular markers linked to resistance / H. Olczak-Woltman, G. Bartoszewski, W. Mądry, K. Niemirowicz-Szczytt // *Plant Pathology*. – 2009. – Vol. 58, N 1. – P. 145–151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01911.x>
18. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay based on *hrpZ* gene for rapid detection and identification of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber leaves / X.-L. Meng, X.-W. Xie, Y.-X. Shi [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. – 2017. – Vol. 122, N 2. – P. 441–449. <https://doi.org/10.1111/jam.13356>
19. Genome analysis of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* strain 814/98 indicates diversity within the pathovar / R. Słomnicka, H. Olczak-Woltman, M. Oskiera [et al.] // *European Journal of Plant Pathology*. – 2018. – Vol. 151, N 3. – P. 663–676. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1401-8>
20. Comparative genomic analysis of *Pseudomonas amygdali* pv. *lachrymans* NM002: Insights into its potential virulence genes and putative invasion determinants / L. Li, L. Yuan, Y. Shi [et al.] // *Genomics*. – 2019. – Vol. 111, N 6. – P. 1493–1503. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.10.004>
21. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // *Bioinformatics*. – 2014. – Vol. 30, N 15. – P. 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
22. Sikolenko, M. A. Barapost: Binning of Nucleotide Sequences According to Taxonomic Annotation / M. A. Sikolenko, L. N. Valentovich // *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*. – 2021. – Vol. 18, N 6. – P. 2766–2767. <https://doi.org/10.1109/tcbb.2020.3009780>
23. Basic local alignment search tool / S. F. Altschul, W. Gish, W. Miller [et al.] // *Journal of Molecular Biology*. – 1990. – Vol. 215, N 3. – P. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
24. GenBank / D. A. Benson, I. Karsch-Mizrachi, D. J. Lipman [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2005. – Vol. 33, Iss. suppl\_1. – P. D34–D38. <https://doi.org/10.1093/nar/gki063>
25. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing / A. Bankevich, S. Nurk, D. Antipov [et al.] // *Journal of Computational Biology*. – 2012. – Vol. 19, N 5. – P. 455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
26. GitHub – masikol/cager-misc [Website]. – URL: <https://github.com/masikol/cager-misc> (date of access: 26.12.2020).
27. Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs / M. Kolmogorov, J. Yuan, Y. Lin, P. A. Pevzner // *Nature Biotechnology*. – 2019. – Vol. 37, N 5. – P. 540–546. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0072-8>
28. Pilon: An Integrated Tool for Comprehensive Microbial Variant Detection and Genome Assembly Improvement / B. J. Walker, T. Abeel, T. Shea [et al.] // *PLOS ONE*. – 2014. – Vol. 9, N 11. – P. e112963. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112963>
29. Langmead, B. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 / B. Langmead, S. L. Salzberg // *Nature Methods*. – 2012. – Vol. 9, N 4. – P. 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
30. Using Tablet for visual exploration of second-generation sequencing data / I. Milne, G. Stephen, M. Bayer [et al.] // *Briefings in Bioinformatics*. – 2013. – Vol. 14, N 2. – P. 193–202. <https://doi.org/10.1093/bib/bbs012>
31. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline / T. Tatusova, M. DiCuccio, A. Badretdin [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2016. – Vol. 44, N 14. – P. 6614–6624. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw569>
32. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes / J. R. Grant, E. Enns, E. Marinier [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2023. – Vol. 51, N W1. – P. W484–W492. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad326>
33. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison / M. Richter, R. Rosselló-Móra, F. O. Glöckner, J. Peplies // *Bioinformatics*. – 2016. – Vol. 32, N 6. – P. 929–931. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv681>
34. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity / I. Lee, Y. O. Kim, S.-C. Park, J. Chun // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2016. – Vol. 66, N 2. – P. 1100–1103. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000760>

35. Darling, A. E. progressiveMauve: multiple genome alignment with gene gain, loss and rearrangement / A. E. Darling, B. Mau, N. T. Perna // *PLOS One*. – 2010. – Vol. 5, N 6. – P. e11147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011147>
36. OrthoVenn3: an integrated platform for exploring and visualizing orthologous data across genomes / J. Sun, F. Lu, Y. Luo [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2023. – Vol. 51, N W1. – P. W397–W403. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad313>
37. REBASE – a database for DNA restriction and modification: enzymes, genes and genomes / R. J. Roberts, T. Vincze, J. Posfai, D. Macelis // *Nucleic Acids Research*. – 2015. – Vol. 43, N D1. – P. D298–299. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1046>
38. CRISPRCasFinder, an update of CRISPRFinder, includes a portable version, enhanced performance and integrates search for Cas proteins / D. Couvin, A. Bernheim, C. Toffano-Nioche [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2018. – Vol. 46, N W1. – P. W246–W251. <https://doi.org/10.1093/nar/gky425>
39. ResFinderFG v2.0: a database of antibiotic resistance genes obtained by functional metagenomics / R. Gschwind, S. Ugarcina Perovic, M. Weiss [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2023. – Vol. 51, N W1. – P. W493–W500. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad384>
40. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence / M. Feldgarden, V. Brover, N. Gonzalez-Escalona [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11, N 1. – Art. 12728. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91456-0>

## References

1. Lalucat J., Gomila M., Mulet M., Zaruma A., García-Valdés E. Past, present and future of the boundaries of the *Pseudomonas* genus: Proposal of *Stutzerimonas* gen. Nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 2022, vol. 45, no. 1, art. 126289. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2021.126289>
2. Silby M. W., Winstanley C., Godfrey S. A. C., Levy S. B., Jackson R. W. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiology Reviews*, 2011, vol. 35, no. 4, pp. 652–680. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00269.x>
3. Mehmood N., Saeed M., Zafarullah S., Hyder S., Rizvi Z. F., Gondal A. S., Jamil N., Iqbal R., Ali B., Ercisli S., Kupe M. Multifaceted Impacts of Plant-Beneficial *Pseudomonas* spp. in Managing Various Plant Diseases and Crop Yield Improvement. *ACS Omega*, 2023, vol. 8, no. 25, pp. 22296–22315. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00870>
4. Höfte M., De Vos P. Plant pathogenic *Pseudomonas* species. *Plant-Associated Bacteria*. Dordrecht, 2006, pp. 507–533. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7_14)
5. Diggle S. P., Whiteley M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (Reading)*, 2020, vol. 166, no. 1, pp. 30–33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>
6. Castaldi S., Masi M., Sautua F., Cimmino A., Isticato R., Carmona M., Tuzi A., Evidente A. *Pseudomonas fluorescens* Showing Antifungal Activity against *Macrophomina phaseolina*, a Severe Pathogenic Fungus of Soybean, Produces Phenazine as the Main Active Metabolite. *Biomolecules*, 2021, vol. 11, no. 11, art. 1728. <https://doi.org/10.3390/biom11111728>
7. Córdova P., Rivera-González J. P., Rojas-Martínez V., Fiore N., Bastías R., Zamorano A., Vera F., Barraeto J., Díaz B., Ilabaca-Díaz C., Bertaccini A., Higuera G. Phytopathogenic *Pseudomonas syringae* as a Threat to Agriculture: Perspectives of a Promising Biological Control Using Bacteriophages and Microorganisms. *Horticulturae*, 2023, vol. 9, no. 6, art. 712. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9060712>
8. Schroth M. N., Hildebrand D. C., Panopoulos N. Phytopathogenic Pseudomonads and Related Plant-Associated Pseudomonads. *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. Vol. 6. Proteobacteria: Gamma Subclass*. New York, 2006, pp. 714–740. [https://doi.org/10.1007/0-387-30746-x\\_23](https://doi.org/10.1007/0-387-30746-x_23)
9. *Pseudomonas syringae* (bacterial blast). *PlantwisePlus Knowledge Bank*, 2022, vol. Species Pages, art. 45010. <https://doi.org/10.1079/pwkb.species.45010>
10. Nikolaidis M., Mossialos D., Oliver S. G., Amoutzias G. D. Comparative Analysis of the Core Proteomes among the *Pseudomonas* Major Evolutionary Groups Reveals Species-Specific Adaptations for *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas chlororaphis*. *Diversity*, 2020, vol. 12, no. 8, pp. 289. <https://doi.org/10.3390/d12080289>
11. Psallidas P. G., Panagopoulos, C. G. A new bacteriosis of almond caused by *Pseudomonas amygdali* sp. nov. *Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki*, 1975, vol. 11, no. 2, pp. 94–108.
12. Gardan L., Shafik H., Belouin S., Broch R., Grimont F., Grimont P. A. D. DNA relatedness among the pathovars of *Pseudomonas syringae* and description of *Pseudomonas tremae* sp. nov. and *Pseudomonas cannabina* sp. nov. (ex Sutin and Dowson 1959). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1999, vol. 49, no. 2, pp. 469–478. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-469>
13. Lee S., Yang D. S., Uppalapati S. R., Sumner L. W., Mysore K. S. Suppression of plant defense responses by extracellular metabolites from *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* in *Nicotiana benthamiana*. *BMC Plant Biology*, 2013, vol. 13, no. 1, art. 65. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-65>
14. CABI. *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (bacterial: mulberry blight). *CABI Compendium*, 2019, art. 44977. <https://doi.org/10.1079/cabicompium.44977>
15. Firdous S., Asghar R., Irfan-ul-Haq M., Waheed A., Afzal S. N., Mirza, M. Y. Pathogenesis of *Pseudomonas syringae* pv. *sesami* associated with sesame (*Sesamum indicum* L.) bacterial leaf spot. *Pakistan Journal of Botany*, 2009, vol. 41, no. 2, pp. 927–934.
16. Olczak-Woltman H., Schollenberger M., Niemirowicz-Szczytt K. Genetic background of host-pathogen interaction between *Cucumis sativus* L. and *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. *Journal of Applied Genetics*, 2009, vol. 50, no. 1, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1007/bf03195645>
17. Olczak-Woltman H., Bartoszewski G., Mądry W., Niemirowicz-Szczytt K. Inheritance of resistance to angular leaf spot (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) in cucumber and identification of molecular markers linked to resistance. *Plant Pathology*, 2009, vol. 58, no. 1, pp. 145–151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01911.x>
18. Meng X.-L., Xie X.-W., Shi Y.-X., Chai A.-L., Ma Z.-H., Li B.-J. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay based on *hrpZ* gene for rapid detection and identification of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber leaves. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, vol. 122, no. 2, pp. 441–449. <https://doi.org/10.1111/jam.13356>
19. Słomnicka R., Olczak-Woltman H., Oskiera M., Schollenberger M., Niemirowicz-Szczytt K., Bartoszewski G. Genome analysis of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* strain 814/98 indicates diversity within the pathovar. *European Journal of Plant Pathology*, 2018, vol. 151, no. 3, pp. 663–676. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1401-8>

20. Li L., Yuan L., Shi Y., Xie X., Chai A., Wang Q., Li B. Comparative genomic analysis of *Pseudomonas amygdali* pv. *lachrymans* NM002: Insights into its potential virulence genes and putative invasion determinants. *Genomics*, 2019, vol. 111, no. 6, pp. 1493–1503. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.10.004>
21. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 15, pp. 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
22. Sikolenko M. A., Valentovich L. N. Barapost: Binning of Nucleotide Sequences According to Taxonomic Annotation. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, 2021, vol. 18, no. 6, pp. 2766–2767. <https://doi.org/10.1109/tcbb.2020.3009780>
23. Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 1990, vol. 215, no. 3, pp. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
24. Benson D. A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D. J., Ostell J., Wheeler D. L. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 2005, vol. 33, iss. suppl\_1, pp. D34–D38. <https://doi.org/10.1093/nar/gki063>
25. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A. A., Dvorkin M., Kulikov A. S., Lesin V. M., Nikolenko S. I., Pham S., Prjibelski A. D., Pyshkin A. V., Sirotkin A. V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M. A., Pevzner P. A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology*, 2012, vol. 19, no. 5, pp. 455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
26. *GitHub – masikol/cager-misc*. Available at: <https://github.com/masikol/cager-misc> (accessed 26.12.2020).
27. Kolmogorov M., Yuan J., Lin Y., Pevzner P. A. Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nature Biotechnology*, 2019, vol. 37, no. 5, pp. 540–546. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0072-8>
28. Walker B. J., Abeel T., Shea T., Priest M., Abouelliel A., Sakthikumar S., Cuomo Ch. A., Zeng Q., Wortman J., Young S. K., Earl A. M. Pilon: An Integrated Tool for Comprehensive Microbial Variant Detection and Genome Assembly Improvement. *PLOS ONE*, 2014, vol. 9, no. 11, p. e112963. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112963>
29. Langmead B., Salzberg S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 2012, vol. 9, no. 4, pp. 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
30. Milne I., Stephen G., Bayer M., Cock P. J. A., Pritchard L., Cardle L., Shaw P. D., Marshall D. Using Tablet for visual exploration of second-generation sequencing data. *Briefings in Bioinformatics*, 2013, vol. 14, no. 2, pp. 193–202. <https://doi.org/10.1093/bib/bbs012>
31. Tatusova T., DiCuccio M., Badretdin A., Chetvernin V., Nawrocki E. P., Zaslavsky L., Lomsadze A., Pruitt K. D., Borodovsky M., Ostell J. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline. *Nucleic Acids Research*, 2016, vol. 44, no. 14, pp. 6614–6624. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw569>
32. Grant J. R., Enns E., Marinier E., Mandal A., Herman E. K., Chen C.-Y., Graham M., Van Domselaar G., Stothard P. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*, 2023, vol. 51, no. W1, pp. W484–W492. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad326>
33. Richter M., Rosselló-Móra R., Glöckner F. O., Peplies J. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison. *Bioinformatics*, 2016, vol. 32, iss. 6, pp. 929–931. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv681>
34. Lee I., Kim Y. O., Park S.-C., Chun J. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, vol. 66, no. 2, pp. 1100–1103. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000760>
35. Darling A. E., Mau B., Perna N. T. progressiveMauve: multiple genome alignment with gene gain, loss and rearrangement. *PLOS One*, 2010, vol. 5, no. 6, pp. e11147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011147>
36. Sun J., Lu F., Luo Y., Bie L., Xu L., Wang Y. OrthoVenn3: an integrated platform for exploring and visualizing orthologous data across genomes. *Nucleic Acids Research*, 2023, vol. 51, no. W1, pp. W397–W403. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad313>
37. Roberts R. J., Vincze T., Posfai J., Macelis D. REBASE – a database for DNA restriction and modification: enzymes, genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 2015, vol. 43, no. D1, pp. D298–299. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1046>
38. Couvin D., Bernheim A., Toffano-Nioche C., Touchon M., Michalik J., Néron B., Rocha E. P. C., Vergnaud G., Gautheret D., Pourcel Ch. CRISPRCasFinder, an update of CRISPRFinder, includes a portable version, enhanced performance and integrates search for Cas proteins. *Nucleic Acids Research*, 2018, vol. 46, no. W1, pp. W246–W251. <https://doi.org/10.1093/nar/gky425>
39. Gschwind R., Ugarcina Perovic S., Weiss M., Petitjean M., Lao J., Coelho L. P., Ruppé E. ResFinderFG v2.0: a database of antibiotic resistance genes obtained by functional metagenomics. *Nucleic Acids Research*, 2023, vol. 51, no. W1, pp. W493–W500. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad384>
40. Feldgarden M., Brover V., Gonzalez-Escalona N., Frye J. G., Haendiges, J., Haft D. H., Hoffmann M., Pettengill J. B., Prasad A. B., Tillman G. T., Tyson G. H., Klimke W. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, no. 1, art. 12728. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91456-0>

## Информация об авторах

Муратова Анна Алексеевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 2, 220084, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: muratova@mbio.bas-net.by

Охремчук Артур Эдуардович – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 2, 220084, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.akhremchuk@mbio.bas-net.by

Валентович Леонид Николаевич – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 2, 220084, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by

## Information about the authors

Anna A. Muratova – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Academician Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: muratova@mbio.bas-net.by

Artur E. Akhremchuk – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Academician Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.akhremchuk@mbio.bas-net.by

Leonid N. Valentovich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Academician Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by